

# 次世代シーケンサーを用いた家族性ALSの網羅的遺伝子解析

著者	西山 亜由美
号	86
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3649号
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/00123330">http://hdl.handle.net/10097/00123330</a>

氏 名	にしやま あゆみ 西山 亜由美
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学位授与年月日	平成 29 年 3 月 24 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 医科学専攻
学位論文題目	次世代シーケンサーを用いた家族性 ALS の網羅的遺伝子解析
論文審査委員	主査 教授 青木 正志      教授 青木 洋子 教授 布施 昇男      教授 呉 繁夫

## 論文内容要旨

筋萎縮性側索硬化症 (Amyotrophic lateral sclerosis, ALS) は運動ニューロンの選択的変性・脱落をきたす成人発症の神経変性疾患である。上位および下位運動ニューロン症状による筋力低下と筋萎縮、球麻痺症状がみられ、発症 2-3 年の経過で死亡するか長期人工呼吸器が必要となる。発症者の 5-10% は家族性で発症がみられ、家族性 ALS と呼ばれる。1993 年に *SOD1* 遺伝子の変異が家族性 ALS の一部の原因として明らかになった。近年では次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析技術の登場により原因遺伝子の報告が相次ぎ、現在までに 20 以上もの関連遺伝子が同定され、ALS の病態解明に大きな進展をもたらしている。私たちはこれまで日本人家族性 ALS 111 家系を集積し、サンガーシーケンスにより 36 家系に *SOD1* 遺伝子変異、12 家系に *FUS* 遺伝子変異を同定し報告してきたが、その他 63 家系において原因遺伝子が不明であった。本研究では遺伝子変異が未同定の家族性 ALS における原因遺伝子を明らかにするために、次世代シーケンサーを用いて網羅的遺伝子解析を行った。

解析可能であった 45 家系 (51 例) に対して ALS もしくは運動ニューロン病関連 35 遺伝子のターゲットリシーケンス解析を行い、6 例に既知の *ANG*、*OPTN*、*SETX*、*TARDBP* 遺伝子変異を同定した。また、1 例に *ALS2* 遺伝子における新規の likely pathogenic ホモ接合性変異を同定した。加えて、18 例に新規の uncertain significance バリエントを検出した。一方、repeat-primed polymerase chain reaction を用いた解析において *C9ORF72* 遺伝子の 6 塩基リピート伸長は同定されなかった。当科で集積した日本人コホートにおいて、*SOD1*、*FUS*、*SETX*、*TARDBP*、*ANG*、*OPTN* 遺伝子変異の頻度は 32%、11%、2%、2%、1%、1% であり、欧米およびアジア人コホートにおける網羅的遺伝子解析研究との比較により、家族性 ALS の原因遺伝子の変異頻度における人種差が示唆された。続いて、ターゲットリシーケンスでも病的変異が特定されなかった 34 家系 (37 例) にエクソーム解析を行った。その結果、2 家系に疾患関連変異を同定した。1 例に近年 ALS 関連遺伝子として報告された遺伝子 X の既知変異を同定した。また、母が ALS、児 2 名が痙性対麻痺という 1 家系に、近年、遺伝性痙性対麻痺の関連遺伝子として報告された遺伝子 Y の変異を同定した。児 2 名は遺伝子 Y における健常父由来の新規変異を有しており、複合ヘテロ接合状態であると考えられた。遺伝子 Y は常染色体優性遺伝形式をとる遺伝性痙性対麻痺の家系で報告されており、今後家族性 ALS に対する病態や表現型への関連の解明が期待される。

本研究によりこれまで遺伝子変異が未同定であった日本人の家族性 ALS 45 家系中 9 家系 (20%) に疾患関連の遺伝子変異を特定することができた。遺伝学的多様性を有し、その他の神経変性疾患と重複する表現型を呈する ALS において、ターゲットリシーケンスに続くエクソ

(書式12)

ーム解析という次世代シーケンサーによる遺伝子解析技術を用いて多検体を効率的に解析し、ALSの病態解明に貢献した。今後、検出された新規の変異に対する機能解析および残る未同定例において新たな原因遺伝子の探索を行っていく。

## 審 査 結 果 の 要 旨

博士論文題目 次世代シーケンサーを用いた家族性 ALS の網羅的遺伝子解析

所属専攻・分野名 医科学専攻 ・ 神経内科 分野

学籍番号 B3MD5089 氏名 西山 亜由美

筋萎縮性側索硬化症（Amyotrophic lateral sclerosis, ALS）は運動ニューロンの選択的変性・脱落をきたす成人発症の神経変性疾患である。上位および下位運動ニューロン症状による筋力低下と筋萎縮、球麻痺症状がみられ、発症 2-3 年の経過で死亡するか長期人工呼吸器が必要となる。発症者の 5-10% は家族性で発症がみられ、家族性 ALS と呼ばれる。1993 年に *SOD1* 遺伝子の変異が家族性 ALS の一部の原因として明らかになった。近年では次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析技術の登場により原因遺伝子の報告が相次ぎ、現在までに 20 以上もの関連遺伝子が同定され、ALS の病態解明に大きな進展をもたらしている。私たちはこれまで日本人家族性 ALS 111 家系を集積し、サンガーシーケンスにより 36 家系に *SOD1* 遺伝子変異、12 家系に *FUS* 遺伝子変異を同定し報告してきたが、その他 63 家系において原因遺伝子が不明であった。本研究では遺伝子変異が未同定の家族性 ALS における原因遺伝子を明らかにするために、次世代シーケンサーを用いて網羅的遺伝子解析を行った。

解析可能であった 45 家系（51 例）に対して ALS もしくは運動ニューロン病関連 35 遺伝子のターゲットリシーケンス解析を行い、6 例に既知の *ANG*、*OPTN*、*SETX*、*TARDBP* 遺伝子変異を同定した。また、1 例に *ALS2* 遺伝子における新規の likely pathogenic ホモ接合性変異を同定した。加えて、18 例に新規の uncertain significance バリエーションを検出した。一方、repeat-primed polymerase chain reaction を用いた解析において *C9ORF72* 遺伝子の 6 塩基リピート伸長は同定されなかった。当科で集積した日本人コホートにおいて、*SOD1*、*FUS*、*SETX*、*TARDBP*、*ANG*、*OPTN* 遺伝子変異の頻度は 32%、11%、2%、2%、1%、1% であり、欧米およびアジア人コホートにおける網羅的遺伝子解析研究との比較により、家族性 ALS の原因遺伝子の変異頻度における人種差が示唆された。続いて、ターゲットリシーケンスでも病的変異が特定されなかった 34 家系（37 例）にエクソーム解析を行った。その結果、2 家系に疾患関連変異を同定した。1 例に近年 ALS 関連遺伝子として報告された遺伝子 X の既知変異を同定した。また、母が ALS、兄 2 名が痙性対麻痺という 1 家系に、近年、遺伝性痙性対麻痺の関連遺伝子として報告された遺伝子 Y の変異を同定した。兄 2 名は遺伝子 Y における健常父由来の新規変異を有しており、複合ヘテロ接合状態であると考えられた。遺伝子 Y は常染色体優性遺伝形式をとる遺伝性痙性対麻痺の家系で報告されており、今後家族性 ALS に対する病態や表現型への関連の解明が期待される。

本研究によりこれまで遺伝子変異が未同定であった日本人の家族性 ALS 45 家系中 9 家系（20%）に疾患関連の遺伝子変異を特定することができた。遺伝学的多様性を有し、その他の神経変性疾患と重複する表現型を呈する ALS において、ターゲットリシーケンスに続くエクソーム解析という次世代シーケンサーによる遺伝子解析技術を用いて多検体を効率的に解析し、ALS の病態解明に貢献した。今後はさらに検出された新規の変異に対する機能解析および残る未同定例において新たな原因遺伝子の探索を行っていく予定である。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。